

Przychodnia Zakładów Garbarskich w Gnieźnie
Zakład Anatomii Patologicznej, Akademia Medyczna w Lublinie
Zakład Higieny Ogólnej, Akademia Medyczna w Lublinie
Instytut Elektroniki Kwantowej, Warszawska Akademia Techniczna

Włodzimierz BULIKOWSKI, Franciszek WOŹNIAK,
Zbigniew BORZEŃKI, Krystyna RADOMSKA,
Krystyna KALISZUK, Zofia ŚWIĘS

Wpływ dwuchromianu potasu na zmiany histopatologiczne w jądrach szczurów białych i wyniki atomopilogramów sierści

Influence of Potassium Dichromate upon Histopathological Changes in Testicles and Results of Atomopilograms of the Hair in White Rats

Związki chromu budzą zainteresowanie w medycynie przemysłowej przede wszystkim z uwagi na działanie drażniące oraz uszkodzające śluzówki i skórę (2). Szczególnie często uczulające działanie chromu jest powodem zawodowego alergicznego zapalenia naskórka i skóry. W związku z ogólnym zaostreniem rygorów i norm higienicznych niejako na plan drugi przesunięto zagadnienie ogólnotoksycznego działania chromu, zwłaszcza przy długotrwałej ekspozycji (9).

Celem badań było określenie działania tego związku chemicznego na jądra szczurów doświadczalnych oraz przesledzenie, w jakim stopniu chrom ze skóry dostaje się do owłosienia.

MATERIAŁ I METODYKA

Do badań użyto 25 szczurów samców rasy Wistar. Zwierzęta podzielono na 5 grup po 5 zwierząt każda, w tym grupa kontrolna. Zwierzętom doświadczalnym podawano w okresie 30 dni następujące substancje:

Grupa I — dwuchromian potasu ($K_2Cr_2O_7$) w ilości 2 mg/kg m.c.

Grupa II — dwuchromian potasu w ilości 5 mg/kg m.c.

Grupa III — dwuchromian potasu w ilości 5 mg/kg m.c., chlorek magnezu w ilości 500 mg/kg m.c.

Grupa IV — chlorek magnezu ($MgCl_2$) 500 mg/kg m.c.

Grupa kontrolna otrzymywała sól fizjologiczną.

Substancje te podawano dootrzewnowo. Po zakończeniu doświadczenia zwierzęta dekapitowano, do badania pobierano jądra szczurów, jako utrwalaczy używano 10% buforowanej formaliny i płynu Bakera. Zdjęto również z części grzbietowej szczurów skórę wraz z sierścią. Skórę zamrożono, a sierść mineralizowano. Pierwiastki oznaczano spektrofotometrem absorpcji atomowej Pye-Unicam SP-9.

Preparaty z bloczków parafinowych barwiono stosując następujące metody:

- 1) hematoksylinę i eozyne alkoholową;
- 2) safraninę;
- 3) impregnację włókien srebrochłonnych według Gomoriego;
- 4) barwienie azanem według Heidenheina;
- 5) barwienie PAS — hematoksyliną w celu zróżnicowania cyklu nabłonka nasiennego.

W gonadzie badano histochemicznie aktywność następujących enzymów:

- 1) fosfatazy (ACP-azy) według Gomoriego;
- 2) fosfatazy zasadowej (ALP-azy) według Gomoriego;
- 3) adenozynotrójfosfatazy (ATP-azy) według Wachsteina i Meissel;
- 4) 5-nukleotyduazy (5-N-azy) według Wachsteina i Meisel;
- 5) esterazy niespecyficznej (NE) według Barneta i Seligmana;
- 6) lipidów z czerwienią oleistą O.

Skórę zdejmowano z części grzbietowej szczurów i pozyskiwano sierść przez strzyżenie, a następnie materiał suszono do stałej wagi i mineralizowano. Pierwiastki oznaczano spektrofotometrem absorpcji atomowej Pye-Unicam SP-9.

WYNIKI BADAŃ

W grupie kontrolnej nie stwierdzono u szczurów żadnych zmian histopatologicznych ani odchyłeń od normy w nasileniu odczynów histochemicznych. Również w grupie I doświadczalnej w jądrach szczurów nie stwierdzono istotnych zmian histopatologicznych. Tylko u 2 szczurów w pojedynczych kanalikach nasiennych stwierdzono obok dojrzałych plemników również młode, niedojrzałe, złuszczone komórki rozrodcze (spermatocyty I- i II- rzędowe wykazujące cechy zwyrodnienia, również tłuszczowego). Odczyny histochemiczne były w normie. Tylko wyrodniałe komórki rozrodcze dawały wzmożenie odczynu na fosfatazę kwaśną.

Znacznego stopnia zmiany, głównie zwyrodnieniowe, obserwowano natomiast w gonadach szczurów z grup II i III. Miały one charakter wielogniskowy i polegały na zmianach degeneracyjnych różnego stopnia i zmianach martwiczych komórek nabłonka, jak hiper- lub hipochromazja komórkowa, chromatoliza lub pyknoza, a także uszkodzenia błony jądrowej komórek nabłonka nasiennego. W niektórych kanalikach nasiennych nastąpiło rozluźnienie struktury nabłonka nasiennego oraz tworzenie wakuoli w komórkach nabłonka, głównie w spermatocytach. Część kanalików nasiennych, zwłaszcza leżących pod otoczką jądra, wykazywała znaczne zmniejszenie średnicy, a ich tkankę graniczną cechowała zwiększona liczba włókien srebrochłonnych. Komórki gruczołu śródmiąższowego Leydiga nie wykazywały zmian histopatologicznych ani zmian w nasileniu odczynów histochemicznych. W przestrzeniach międzykanalikowych obserwowano obecność płynu białkowego na skutek przenikania płynnych składników krwi z uszkodzonych naczyń krwionośnych międzykanalikowych. W przewodach najądrza stwierdzono zmniejszenie masy plemników oraz obecność niedojrzałych, złuszczonych i zwyrodniałych komórek rozrodczych.

Wykonane odczyny histochemiczne w gonadach szczurów grup II i III wykazały wzmocnienie odczynu na fosfatazę kwaśną (ACP-azę). Jednocześnie w wielu kanalikach nasiennych obserwowano osłabienie odczynu na 5-nukleotydazę w tkance granicznej kanalików nasiennych. Osłabieniu również uległ odczyn na substancję PAS-dodatnie w spermatogoniach nabłonka nasennego. Pozostałe odczyny histochemiczne w grupach II i III nie różniły się na ogół od uzyskanych w grupie kontrolnej.

Nie obserwowano zmian histopatologicznych i histochemicznych w gonadach szczurów grupy IV, narażonej na sam chlorek magnezu.

W sierści szczurów grup I—IV oznaczono poziom chromu i magnezu, pierwiastków, które zwierzęta otrzymywały egzogennie. Ponadto oznaczono również takie pierwiastki, jak wapń, cynk i miedź, by zorientować się w zachodzącej zależności między chromem a pozostałymi pierwiastkami. Najwyższe stężenie chromu w sierści stwierdzono w grupie II, tj. u zwierząt, które otrzymywały dwuchromian potasu w dawce 5 mg/kg m.c. ($0,314 \pm 0,2$ p.p.m.). Niższe natomiast wartości chromu stwierdzono w grupie III, tj. u zwierząt, które otrzymywały dwuchromian potasu w ilości 5 mg/kg m. c. łącznie z chlorkiem magnezu w ilości 500 mg/kg m. c. — $0,23 \pm 0,08$ p.p.m. W sierści zwierząt grupy kontrolnej wartości chromu pozostawały na poziomie $0,16 \pm 0,077$ p.p.m.

Podanie zwierzętom magnezu egzogenego nie wpływało w sposób istotny na zmiany poziomów tego pierwiastka w sierści tych zwierząt. Spośród oznaczanych endogennych pierwiastków (wapń, cynk i miedź) jedynie poziom wapnia był podwyższony w grupie II, tj. u zwierząt po dawce dwuchromianu potasu 5 mg/kg m. c. ($416,0 \pm 72,93$ p.p.m.) i w grupie IV, tj. u zwierząt po samym chlorku magnezu ($410,0 \pm 106,2$ p.p.m.). Poziomy cynku i miedzi u zwierząt w grupach doświadczalnych nie różniły się od wartości uzyskanych w grupie kontrolnej (tab. 1).

Tab. 1. Wyniki atomopilogramów sierści doświadczalnych zwierząt eksponowanych dootrzewnowo na chrom w okresie 30 dni

Results of atomopilograms of hair of experimental animals exposed intraperitoneally to chromium for 30 days

Grupy (liczebność każdej N=5)	Ekspozycja w mg/kg m.c.	Poziom pierwiastków w ppm (średnie \pm odchylenie standardowe)				
		Chrom	Wapń	Magnez	Cynk	Miedź
Kontrolna	Vehicleum — H ₂ O	0,16 \pm 0,077	292,8 \pm 20,8	114,0 \pm 30,2	168,0 \pm 8,37	11,3 \pm 0,97
I	K ₂ CR ₂ O ₇ — 2	0,18 \pm 0,06	345,6 \pm 49,3	104,8 \pm 15,2	175,4 \pm 11,93	11,9 \pm 1,67
II	K ₂ CR ₂ O ₇ — 5	0,314 \pm 0,2	416,0 \pm 72,93	122,1 \pm 11,82	189,5 \pm 16,09	11,01 \pm 1,37
III	K ₂ CR ₂ O ₇ — 5 MgCl ₂ — 500	0,23 \pm 0,08	257,2 \pm 55,28	94,0 \pm 32,66	182,8 \pm 10,55	13,3 \pm 0,67
IV	MgCl ₂ — 500	0,21 \pm 0,083	410,0 \pm 106,2	85,5 \pm 8,1	173,6 \pm 13,9	14,4 \pm 3,49

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Chrom w organizmie, niezależnie od drogi podania, wydala się bardzo wolno, bo w okresie ok. 140 dni (1). Na przykład w doświadczeniu przy podawaniu dotchawicznym chromianów po 24 godz. ok. 13% podanej dawki wydalilo się z moczem, 11% pozostało w płucach, 8% w krwinkach, 1% w surowicy, 4% w wątrobie, 3% w nerkach. Chrom odzyskiwano również ze skóry, mięśni i nadnerczy (1). Najtrwalsza akumulacja zachodzi w płucach i śledzionie. Być może, z tym właśnie wiąże się immunomodulacyjne działanie chromu (4, 7). W dostępnym piśmiennictwie niewiele jest publikacji dotyczących kinetyki chromu w gonadach (6). Specyficzność działania cytotoksycznego 6-wartościowego chromu dotyczy zarówno mitochondriów, frakcji mikrosomalnych, jak i cytosolu, gdzie następuje częściowa redukcja donorów elektronów (5, 6). Chrom zmienia równowagę w grupach rybonukleotydów purynowych (3), co jest zgodne z przeprowadzonymi obserwacjami. Długotrwałe podawanie chromu powoduje zmiany w obrębie gonady męskiej, polegające na zwyrodnieniu i martwicy nabłonka plemnikotwórczego (8).

Ocena ilościowa niektórych pierwiastków w sierści zwierząt nastęrcza wiele trudności. Chrom podawany zwierzętom w okresie 30 dni w niewielkim stopniu przenikał do sierści. W grupie II dawka chromu 5 mg/kg m.c. nieznacznie podwyższała jego zawartość w sierści.

Trudne do zinterpretowania są poziomy pozostałych oznaczonych pierwiastków (tab. 1), ponieważ chrom, jako pierwiastek egzogeny, nie był znajdowany w sierści w ilościach proporcjonalnych do podawanych dawek (2, 8). Zawartość pozostałych pierwiastków w sierści zwierząt nie uległa zmianie.

Wnioski

1. Dwuchromian potasu w dawce 5 mg/kg wywołał zmiany zwyrodnieniowe polegające na degeneracji różnego stopnia i zmianach martwiczych komórek nabłonka oraz hipochromazji komórkowej.

2. Odczyny histochemiczne w gonadach szczurów otrzymujących dwuchromian potasu wykazywały wzmożony odczyn na fosfatazę kwaśną oraz osłabienie odczynu na 5-nukleotydazę w tkance granicznej kanalików nasiennych.

PIŚMIENNICTWO

1. Baetuer A. M. i wsp.: Distribution and Retention of Chromium in Men and Animals. Arch. Ind. Health 20, 136, 1959.
2. Bulikowski W. i wsp.: Wyniki atomopilogramów przed i po profilaktycznej kuracji dolomitem w grupie garbarzy narażonych na chrom. [w:] Streszczenia referatów VI Zjazdu PTMP. Gdańsk 1988.

3. Debetto P. i wsp.: Toxic Effect of Chromium on Cellular Metabolism. *Sci. Total Environ.* **71**, 365, 1988.
4. Fruden E.: *Biochemistry of the Essential Ultrace Elements*. Plenum Press, New York 1983.
5. Laborda R. i wsp.: Nephrotic and Hepatotoxic Effects of Chromium in Rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **86**, 332, 1986.
6. Pearson D. i wsp.: Mechanism of Chromium Carcinogenesis. *Acta Pharmacol. Toxicol.* **59**, suppl. 7 260, 1986.
7. Petrilli F. L. i wsp.: Metabolic Reduction of Chromium as a Threshold Mechanism Limiting Its *in vivo* Activity, *Sci. Total Environ.* **71**, 357, 1988.
8. Setchell B. P. i wsp.: Development of the Blood-Testis Barrier and Changes in Vascular Permeability at Puberty in Rats. *J. Androl.* **11**, 225, 1988.
9. Steinmetz-Markiewicz Z. i wsp.: Rakotwórcze i immunomodulacyjne właściwości chromu. *Pol. Tyg. Lek.* **41**, 870, 1986.

Otrzymano 1990.11.23.

SUMMARY

Male rats were administered, for the period of 30 days, potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) in a dose of 2 and 5 mg/kg of body weight and magnesium chloride ($MgCl_2$) in a dose of 500 mg/kg of body weight. These two substances were also administered jointly ($K_2Cr_2O_7$ — 5 mg/kg and $MgCl_2$ — 500 mg/kg of body weight). In the testicles of animals receiving $K_2Cr_2O_7$ in a dose of 5 mg/kg of body weight in groups III and IV there were observed changes of significant degree, mainly degenerative and multifocal, which consisted in degenerative changes of various degrees and changes of necrotic epithelium cells which, in turn, consist in cell hyper- or hypochromasia of chromatolysis or pycnosis and, too, in lesions of testicle epithelium of the spermatid epithelium cells. The cells of the Leydig intraparenchymatous gland did not reveal any histopathological changes as well as changes in the increase of hyatochemical tests. The highest concentration of chrome was in the hair of the animals receiving $K_2Cr_2O_7$ in a dose of 5 mg/kg of body weight.

